第39卷 第3期 昆 虫 学 报 Vol.39, No.3
1996年 8月 ACTA ENTOMOLOGICA SINICA Aug., 1996

褐飞虱生物型特异性蛋白质研究

方继朝 杜正文 夏礼如 孙建中
(江苏省农业科学院植物保护研究所 南京 210014)

褐飞虱是我国及东南亚水稻重大害虫。利用抗虱基因、培育推广抗虫品种是综合治理褐飞虱的优先策略，在水稻生产上发挥了重要作用[1]。但褐飞虱的生物型变化，导致原有的抗虱性丧失[2]。国际水稻研究所已在含抗虱基因的不同水稻品种上饲养繁殖了褐飞虱三种生物型，用于抗性种质的筛选鉴别[3]。我国浙江、广西等省区也已报道田间褐飞虱生物型2占优势[4,5]。但褐飞虱生物型变化的生物学本质尚未揭示，因而其种内分类地位存在争论[3,6]。本研究从褐飞虱与水稻互作角度，分析不同生物型的褐飞虱及其鉴别稻株的可溶性蛋白质，探索生物型演变过程及特异性分子标识。

1 材料与方法

1.1 褐飞虱不同生物型的饲养测定

自田间采集褐飞虱雌成虫，单头饲养繁殖后，以鉴别品种TN1和Mudgo分别测定后代的致害级别和存活率；再将初步鉴定的生物型1和2分别单对饲养于TN1和Mudgo稻株上，建立16代以上的有性系，测定其生物型仍分属1、2型，以此作为进一步分析的实验虫源。

1.2 可溶性蛋白质提取

提取缓冲液为0.625 mol /L Tris-HCl (pH7.0)，含5%巯基乙醇、15%甘油和1 mmol /L EDTA。取1型和2型褐飞虱初羽雌成虫各5头、或称取TN1和Mudgo叶鞘各200 mg（鲜重），分别以预冷的玻璃匀浆器加150 μL提取液充分匀浆。匀浆液经20 000×g离心(4 ℃) 30 min，取上清液立即电泳。

1.3 Native凝胶电泳和银染色

参照方继朝等[7]的方法。但浓缩胶缓冲液为0.625 mol /L Tris-HCl (pH7.0)，制胶时以0.1 mg /mL核黄素取代0.06%过硫酸胺，进行光聚合。加样量20 μL。电泳后，凝胶按朱昌亮的程序[8]进行银染色。

2 结果分析

由Native电泳分离的活性蛋白质图谱(图1)可见，取食TN1稻株(无抗虱基因)的1型褐飞虱呈现一条特异性增强的蛋白质带，其电泳迁移率为0.125，近电泳负极；而在Mudgo稻株(含抗虱基因

1994-11-29收稿，1995-04-30收修改稿

Bph1）上连代饲养的2 型褐飞虱中，该蛋白质带极弱或缺失。进一步分析表明：2型褐飞虱由 Mudgo 转至 TN1 稻株上饲养 1 代，未诱导产生 1 型特异性蛋白质带(图 1：II′)；而 1 型褐飞虱由 TN1 移至 Mudgo 稻株上饲养 7 d 后，仍保持 1 型特异性的蛋白质带(图 1：I′)；TN1 和 Mudgo 稻株的可溶性蛋白质图谱则与褐飞虱(1 型或 2 型)的基本不同，因而也不存在 1 型褐飞虱的特异性蛋白质。以上结果说明：1 型褐飞虱的特异性蛋白质既不是来源于 TN1 稻株、也不是 TN1 诱导 1 型褐飞虱产生，而是褐飞虱生物型 1、2 之间稳定存在的大分子差异，反映褐飞虱的生物型分化具有系统遗传背景。

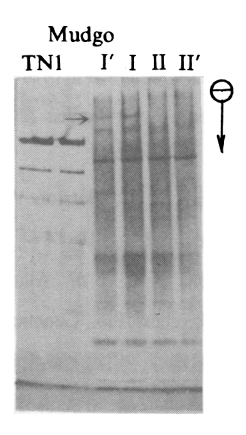


图1 褐飞虱生物型1、2及其鉴别稻株 TN1、Mudgo 的可溶性蛋白质 Native 电泳图谱

箭头示生物型1 的特异性蛋白质带

3 讨论

监测褐飞虱生物型的经典方法，是利用一组含有不同抗虱基因的水稻品种 TN1 和 Mudgo 等分别测定褐飞虱的存活率和致害级别，因此，“生物型”实质上是褐飞虱对品种抗虱性的反应型。这种表型差异是否具有基因型背景、从而赋予“生物型”以确定的生物学特征如遗传性、种类分类单元等，或只是抗虱品种诱导的获得性性状，这直接关系到抗虫育种及生物型的演变趋势。Saxena 等[9, 10]研究指出，不同生物型的性染色体行为存在变异性，因而田间不同生物型之间可能已形成生殖隔离[3]；同工酶分析表明，不同生物型呈现酶带差异[11]；另一方面，Claridge 等[6]提出，褐飞虱生物型仅代表致害力的自然差异，并无生殖隔离和真正的分类地位。本研究表明，褐飞虱生物型 1 具有稳定区别于生物型 2 的特异性蛋白质，从而揭示：褐飞虱的生物型分化，是在种内遗传变异基础上和抗虱品种(基因)选择压力下产生的，即在感性品种如 TN1 上生长的田间褐飞虱种群包含来自同一虫源地的各种生物型的遗传变异。因此，以生物型 1 为主体的田间种群，在单基因抗虫品种上易于选育成生物型 2 或 3[12]。不同生物型是否已形成“生殖障碍”，尚待深入研究。

本研究在水稻鉴别品种上单对饲育、建立褐飞虱生物型的有性系，从而剔除了致害表现型相同的“生物型”杂合子。以此作为实验虫源，可排除有性生殖方式对褐飞虱“生物型”传代稳定性的影响。

参 考 文 献

1 Medrano F G, Heinrichs E A. Response of resistant rices to brownplanthopper (BPH) collected in Mindanao, Philippines. IRRI Newsl., 1985, **10**: 14～15

2 Pathak P K, Heinrichs E A. Selection of biotype populations 2 and 3 of *Nilaparvata lugens* by exposure to resistant rice varieties. Environ. Entomol., 1982, **11**: 85～90

3 Saxena R C, Barrion A A. Biotypes of the brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stal) and strategies in deployment of host plant resistance. Insect Sci. Appl., 1985, **6**: 171～189

4 巫国瑞等. 褐稻虱生物型及其监测. 病虫测报，1990，(1)：39～42

5 李 青等. 广西褐稻虱生物型初报. 广西农业科学，1991，(1)：11～14

6 Claridge M F *et al*. The “biotypes” of the rice brownplanthopper, *Nilaparvata lugens*. Entomol. Exp. & Appl., 1980, **27**: 23～30

7 方继朝等. 籼稻体细胞胚胎发生特异性蛋白质研究. 作物学报, 1994, 20(4): 395～400

8 朱昌亮等. 一种蛋白质等电聚焦银染色方法. 生物化学与生物物理进展, 1988, 15(4): 313

9 Saxena R C, Barrion A A. Cytological variations in brownplanthopper biotypes 1 and 2. IRRI Newl., 1982, 7(3): 5

10 Saxena R C, Barrion A A. Cytogenetic variations among brown planthopper biotypes 1, 2 and 3. IRRI Newl., 1983, 8(2): 14～15

11 Saxena R C *et al*. Allozyme variation among biotypes of the brown planthopper *Nilaparvata lugens* in the Philippines. Bio. Genetic. 1991, 19: 115～123

12 巫国瑞等. 稻褐飞虱生物型的研究. 昆虫学报, 1983, 26(2): 154～160

A STUDY ON THE BIOTYPE SPECIFIC PROTEIN IN THE BROWN PLANTHOPPER, *NILAPARVATA LUGENS*(HOMOPTERA: DELPHACIDAE)

Fang Jichao Tu Chengwen Xia Liru Sun Jianzhong

(*Institute of Plant Protection*, *Jiangsu Academy of Agricultural Sciences Nanjing* 210014)